取扱説明書

ReproHSC

Cat.# RCHSMD001

保存方法

本品は冷凍状態で発送されます。到着後すみやかに-20℃で保存して下さい。使用前に解凍し、解凍後は 2～8℃で保存して下さい。解凍後は 2 週間を目安に使い切って下さい。なるべく凍結融解は繰り返さないで下さい。

特長

・ヒト造血前駆細胞・造血前駆細胞の増殖培養に最適。

・CD34 陽性 CD38 陰性細胞を高率に維持および増幅可能。

・TPO の代替として日産化学工業株式会社と共同開発した低分子化合物（TPO 受容体アゴニスト）が付属のため、TPO を添加することなく培養可能で、コスト削減が可能。（類縁物質を使用した参考文献：*Exp Hematol.* 2009 Nov;37(11):1364-1377.）

・TPO 使用培地と同等以上の培養成績を発揮。

製品について

本品は研究用ですので、治療・診断目的には使用しないで下さい。また、本品を当社からの許可なしに第三者への販売や商業目的に使用することを禁じます。

製品内容

1.	ReproHSC	500 mL
2.	ReproHSC supplement	500 µL

使用方法

1. 使用する前日から ReproHSC を 4℃の冷蔵庫にて解凍する。
2. 解凍したら ReproHSC を 37℃で 20 分程度温める。
3. Supplement を 37℃で 20 分程度温める。
4. Supplement 全量をボトルに加える。以降、この培地を ReproHSC (+)とする。

培養例

（必要な試薬および消耗品）

1. ペトリディッシュ(35×10mm Style)： FALCON, 351008
2. RetroNectin :TaKaRa, #T100B
3. PBS(-)：SIGMA, D5652
4. 臍帯血由来 $CD34^+$細胞
5. SCF (Stem Cell Factor)：PeproTech, 300-07
6. その他培養操作に通常必要なもの

（培養操作）

1 日目

1. ペトリディッシュに RetroNectin(25ug/mL)溶液を 1 mL 加え、室温で 2 時間静置する。
2. RetroNectin 溶液を取り除き、2% BSA/PBS を 1 mL 加え、室温で 30 分間静置する。
3. BSA 溶液を取り除いて、PBS を加える（1 mL/dish）。
4. 液体窒素から CD34 陽性細胞を取り出して、ウォーターバスで解凍する。
5. 細胞を 10mL の ReproHSC(+)を入れた 15 mL の遠心チューブに静かに入れる。
6. バイアルに付着した細胞を回収するために、15 mL 遠心チューブから 1 mL の培地を加えてバイアルを洗い、15 mL チューブに戻す。
7. 350 g、5 分間遠心分離する（室温）。
8. 上清を取り除き新しい ReproHSC(+)を 2 mL 加えて、細胞を静かによく懸濁する(マイクロピペットでゆっくり 2-3 回）。
9. 全量の細胞を、コーティングしたディッシュに播種する（$1x10^6$cells/dish まで可能）。
10. SCF (100 ng/mL)を添加する。
11. 5% CO_2 37℃で一晩培養する。

2 日目

12. 1 日目に播種した細胞をマイクロピペットで優しくディッシュから剥がし、15mL 遠心チューブに回収する。
13. 350 g、5 分間遠心分離する（室温）。
14. 上清を取り除き、5 mL の ReproHSC(+)で細胞を静かによく懸濁する(P-1000 マイクロピペットでゆっくり 2-3 回）。
15. 350 g、5 分間遠心分離する（室温）。
16. 上清を取り除き、2 mL の ReproHSC(+)を加えて、細胞を静かによく懸濁する(マイクロピペットでゆっくり 2-3 回）。
17. 細胞数を計測する。

18. 24well ディッシュに細胞を播種する（1×10^4 cells/well）。

19. 各実験に合わせてサイトカインを添加する。

20. 5% CO_2 37℃で 1 週間培養する。

株式会社リプロセル

https://www.reprocell.com

E-mail: info_jp@reprocell.com